Lane Medical Library

Ueber das Desinfektionsvermögen der Säuren.

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR ERLANGUNG DER

MEDIZINISCHEN DOKTORWÜRDE

AN DER

FRIEDRICH-WILHELMS-UNIVERSITÄT

ZU BERLIN.

VON

Arthur Bruenn
prakt. Arzt aus Berlin.

Tag der Promotion: 23. Mai 1913.

Emil Ebering, Berlin NW., Mittelstr. 39.

Gedruckt mit Genehmigung

der

Medizinischen Fakultät der Universität Berlin.

Referent: Prof Dr. **L. Michaelis**.
Korreferent: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. **Flügge**.

Meinen lieben Eltern

Digitized by the Internet Archive
in 2025

https://archive.org/details/ueberdasdesinfek0000arth

Die Desinfektionskraft der Säuren, die seit langem bekannt ist, ist in letzter Zeit Gegenstand eingehender Untersuchungen geworden. Wenn man über die Desinfektionskraft einer Säure etwas sagen will, hieß es allgemein, so hat man als Hauptsache das zeitliche Moment ihrer Wirkung zu berücksichtigen: eine hohe und eine niedrige Säurekonzentration unterscheiden sich durch den zeitlichen Ablauf ihrer Wirksamkeit, eine niedrige braucht länger, um eine bestimmte Anzahl von Bakterien zu töten. In diesem Sinne sind die Untersuchungen von Theodor Paul, Birstein und Reuß gehalten (Biochemische Zeitschrift, 1910, 29. Band, „Beiträge zur Kinetik der Giftwirkung von gelösten Stoffen"). Sie haben den zeitlichen Ablauf eines desinfizierenden Mittels bestimmt: wie wird die Zahl der lebenden Keime mit der Zeit verringert, wenn man das desinfizierende Mittel zusetzt? Vieviel Keime sind nach 10 Minuten Einwirkung, nach $1/2$ Stunde, nach 1 Stunde noch lebend und wirksam? Sie fanden folgende Resultate: Die Desinfektionsgeschwindigkeitskonstante der Salzsäure ist annähernd der Quadratwurzel aus der Säurekonzentration proportional; die Desinfektionsgeschwindigkeitskonstante der Buttersäure ist dem Quadrat der Säurekonzentration proportional; die der Essigsäure ist der Säurekonzentration selbst annähernd proportional. Sie fanden ferner bei der Untersuchung des Einflusses der Neutralsalze auf die Desinfek-

tionsgeschwindigkeit von Säuren diese nicht proportional der $[H^{\cdot}]$[1], sondern eine spezifische Abhängigkeit von den Anionen: „Gewisse anorganische Salze beschleunigen in Konzentrationen, bei denen sie an und für sich keine Desinfektionswirkung ausüben, die Desinfektionswirkung anorganischer Säuren.“ Sie fanden das Anion, z. B. in Form der Natronsalze, an sich unwirksam, jedoch fanden sie eine katalysatorisch verstärkende Wirkung der Anionen auf die Wasserstoffionen. Wir fragten uns nun, ob es nicht bei anderer Fragestellung gelingt, zu anderen einfacheren Gesetzen zu kommen. Vorausgeschickt sei, daß wir mit Säuren arbeiten, die in Form ihrer Alkalisalze von weitgehender Indifferenz auf Bakterien sind (daß wir also Stoffe wie Chromsäure, Bor- und Pikrinsäure vermeiden); ich habe mich vorläufig auf Essigsäure und Milchsäure beschränkt. Da liegt es ja nun nahe, an den Zusammenhang von $[H^{\cdot}]$ und Desinfektionswirkung zu denken. Es erübrigt sich an dieser Stelle, darauf hinzuweisen, welche Bedeutung die Ionen für die Erklärung vieler früher unverständlicher Vorgänge gewonnen haben; sie erklären die Leitfähigkeit der Elektrolyten, die chemischen Eigenschaften der wässrigen Lösungen der Elektrolyten, ihre große chemische Aktivität.

Um nun die Abhängigkeit der Desinfektionswirkung von der $[H^{\cdot}]$ festzustellen, brauchen wir Lösungen von genau abgestufter $[H^{\cdot}]$. Wir können nun die $[H^{\cdot}]$ in einer für uns genügenden Genauigkeit nach folgender Formel berechnen

$$[H^{\cdot}] = k \,.\, \text{Säure/Salz},$$

wobei k die Dissoziationskonstante der Säure dar-

---

* Ich schreibe hier stets statt Wasserstoffjonenkonzentration das Zeichen $[H^{\cdot}]$.

stellt, eine Formel, die mit der vielfach gebräuchlichen Methode der Messung der [H·] durch Wasserstoffkonzentrationsketten nach Prof. L. Michaelis (s. Abderhalders Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden Bd. III) bei vielfachsten Berechnungen dieselben Resultate liefert. Wir können nun, um Gemische von verschiedener [H·] zu erhalten, zu gleichen Mengen der Säurelösung verschiedene Mengen der Salzlösung zusetzen, oder umgekehrt zu gleichen Mengen der Salzlösung verschiedene Mengen der Säurelösung. Ich habe in meinen Versuchen das letztere vorgezogen, und zwar: L. Michaelis hat bei der Untersuchung der Koagulation der Eiweiße durch Säuren, die mit unserer Aufgabe: der Abtötung der Bakterien durch Säuren in engstem Zusammenhange steht, worauf späterhin noch zu kommen sein wird, den Einfluß der Salze auf jenen Prozeß studiert und gefunden, daß das Koagulationsoptimum bei wechselnder Azidität an sich unabhängig von den Salzen ist, die Koagulationsgeschwindigkeit aber von dem Salzgehalt der Lösung abhängig ist, wobei die Koagulation um so schwächer ausgeprägt ist und um so langsamer eintritt, je höher die Konzentration des Salzes ist. Wir verfuhren also derart, daß wir eine bestimmte Menge von Natriumacetat mit steigenden Mengen freier Essigsäure versetzten und vermieden, daß in der Lösung irgendwelche erhebliche Mengen anderer Stoffe vorhanden sind. So ist uns eine feine Abstufung der [H·] möglich.

Derartig vorgehend, fanden wir nun, daß eine bestimmte Menge Essigsäure keinen irgendwie bemerkbaren Desinfektionswert hat, sobald ihre Lösung unter einer bestimmten [H·] bleibt. Von einer einigermaßen scharf abgrenzbaren

[H·] beginnt erst diese Desinfektionswirkung, hier aber sofort rapide. Somit können wir nach unseren Versuchen im Gegensatz von Paul, Birstein und Reuß eine einigermaßen genau bestimmbare [H·] angeben, die diese Schwelle angibt. Und wir können das zeitliche Moment als Nebensache betrachten und in 2. Linie stellen. Ein Beispiel: Wenn ich Colibazillen in eine Lösung, die eine [H·] von 4.10^{-5} besitzt, versetze, so erweist sich, daß nach 24 Stunden kein lebendes Bacterium coli mehr nachweisbar ist. Dagegen sind in einer Lösung von [H·] = 1.10^{-5}, also bei einer nur verhältnismäßig kleineren [H·], auch nach mehreren Tagen noch üppige Mengen von Bakterien nachweisbar. Und in einer Lösung von dazwischenliegender [H·], z. B. 2.10^{-5}, sehen wir, sind nach 1 mal 24 Stunden noch vereinzelte, nach 2 mal 24 Stunden kein lebendes Bacterium coli nachweisbar. Wir sehen also, daß wir eine gewisse, von der Zeit ziemlich unabhängige Schwelle der Desinfektionskraft der [H·]-Ionen angeben können. Oder um uns noch genauer auszudrücken, wollen wir statt „Schwelle", das einen scharfen Punkt bezeichnet, das Wort „Schwellenbereich" setzen; und definieren als dessen obere Grenze die [H·], bei der nach 24stündigem Aufenthalt nicht ein einziges lebensfähiges Bacterium mehr vorhanden ist, und als untere die, bei der nach 24 Stunden noch vereinzelte Kolonien wachsen.

Nach dieser Definition der Desinfektionsschwelle der [H·]-Ionen stellten wir uns nunmehr die Aufgabe:

Hängt diese Desinfektionsschwelle von von den Anionen ab und von der Menge der freien Säure oder allein von der Wasserstoffionenkonzentration?

Und da zeigt es sich nun, daß wir bei dieser Fragestellung zu einfacherer Antwort gekommen sind, als Paul, Birstein und Reuß, nämlich unsere Desinfektionsschwelle erwies sich als ganz unabhängig von der Menge der freien Säure, und soweit unsere Versuche lehren (wir verwandten allerdings nur Essigsäure und Milchsäure) auch von der Art der Säure und hängt nur ab von der Wasserstoffionenkonzentration.

Dies Resultat erhielten wir durch folgende Versuche.

Versuche mit Bacterium coli.

Um uns zuerst einigermaßen zu orientieren, welchen Säuregrad die Colibakterien aushalten können, begannen wir mit einigen Vorversuchen. Zu gewöhnlicher Bouillon fügten wir 1 ccm $^1/_{10}$ n-Natronlauge, zu einer zweiten 1 ccm $^1/_{10}$ n-Essigsäure und impften in jedes Gemisch eine Oese Colibazillen und ließen die Gemische 24 Stunden im Brutschrank stehen. Nach 24 Stunden impften wir je eine Oese der Gemische auf Agarschrägröhrchen und fanden nach 24 Stunden üppiges Wachstum. Aehnlich verfuhren wir in einer Reihe folgender Gemische: Bouillon + 1 ccm n-Natronlauge, + 1 ccm $^1/_3$ n- und + 1 ccm $^1/_5$ n-Natronlauge; und Bouillon + 1 ccm n-Essigsäure, 1 ccm $^1/_3$ n- und 1 ccm $^1/_5$ n-Essigsäure. Wachstumfähige Bakterien waren nur nachweisbar in dem Gemisch: Bouillon + 1 ccm $^1/_5$ n-Essigsäure. Somit war uns ein gewisser Fingerzeig für die Aziditätsgrenze des Bacterium coli gegeben.

In einer 2. Versuchsreihe verfuhren wir bereits ähnlich in der Herstellung der Säurelösungen, wie wir es oben kurz angegeben. Wir versetzten ein- und dieselbe Menge Natronlauge mit verschiedenen Mengen Essigsäure, doch immer mit mehr Essigsäure als zu ihrer Neutralisation nötig war, so daß ein Gemisch von Natriumacetat und freier Essigsäure resultierte; und zwar fügten wir soviel Essigsäure hinzu, daß in jedem folgenden Gemisch die Menge der freien Essigsäure das Doppelte des vorhergehenden Gemisches betrug; nämlich:

n-NaOH	5	5	5	5	5
n-Essigsäure	10	15	25	45	85
Aqua dest. ad	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
n-Natriumacetat	5	5	5	5	5
freie n-Essigsäure	5	10	20	40	80

Zu unseren Versuchen nahmen wir 5 ccm Aqua destill. + 1 ccm dieser Lösungen. Jedes dieser Gemische wurde nach Impfung mit einer Oese Coli auf 24 Stunden in den Brutschrank gestellt. Dann wurde, zur Prüfung der Entwicklungsfähigkeit der Bakterien, eine Oese von der Flüssigkeit auf Agar übertragen. Hier fanden wir nirgends Wachstum.

Nun gingen wir zu unsern eigentlichen, feiner abgestuften Versuchen über, die uns die Beantwortung unserer Frage geben sollten: wir stellten zuerst durch einwandfreie Versuche fest, welche absolute Säuremenge dazu gehört, um Kolibakterien abzutöten; dann prüften wir die Lebensfähigkeit der Bakterien, die in 5 mal so starken Lösungen geimpft und die in 5 mal so schwachen Lösungen geimpft

waren. Und schließlich prüften wir die Säureresistenz der Colibakterien statt in Lösungen von Essigsäure und essigsaurem Natron, in Milchsäure und milchsaurem Natron. Vorweggenommen sei noch einmal der Gang der Versuche. Nach Herstellung der Aziditätslösungen impften wir in jede eine Oese Coli, stellten die Lösungen auf 24 Stunden in den Brutschrank und impften von jeder Lösung auf Agarschrägröhrchen; häufig auch noch nach 48- und 72stündigem Stehen im Brutschrank. Bei einer Reihe anderer Versuche ließen wir die Lösungen bei Zimmertemperatur stehen und impften dann nach 24 resp. 48 resp. 72 Stunden auf Agar schräg.

Wir begannen mit folgenden Lösungen:

n/10 Natriumacetat	1	1	1	1
n/100 Essigsäure	0,15	0,3	0,6	0,12
Aq. dest. ad 10,0	8,85	8,7	8,4	7,8

Wir fanden in allen Röhrchen nach 24stündigem Aufenthalt im Brutschrank kräftig wachstumsfähige Kolibakterien. Nun gingen wir zu saureren Lösungen über, von denen die erste in ihrer Aziditätsgröße der letzten der früheren entsprach.

Lösung	a	b	c	d	e	f*
n/10 Natriumacetat	1	1	1	1	1	1
n/10 Essigsäure	0,12	0,25	0,5	1	2	4
Aq. dest. ad 10,0	8,88	8,75	8,5	8	7	5

* Ich habe diese Lösungen der bequemeren Uebersicht halber mit den Buchstaben a—f bezeichnet; im selben Verhältnis anwachsende Lösungen werden weiter mit g, h . . . bezeichnet; schwächere Lösungen, von a anfangend, mit α, β; 5 mal so starke

Nach 24 stündigem Stehen fanden wir die Grenze bei Lösung d. Agarröhrchen mit Lösung e geimpft, waren steril geblieben. Nach 48 stündigem Stehen waren wachstumsfähige Bakterien nachweisbar in Lösung a—c, nach 72 stündigem Stehen nur noch in Lösung a und b. Wir wiederholten den Versuch und fanden genau das gleiche Resultat. Somit war die Aziditätsgrenze für Coli ermittelt.

Nun stellten wir Lösungen her, deren absolute Mengen an Säure und Natriumacetat 5 mal so stark als die der Ursprungslösungen waren, deren [H·] aber genau die gleiche ist, nämlich:

Lösung	a^5	b^5	c^5	d^5	e^5	f^5
n/2 Natriumacetat	1	1	1	1	1	1
n/2 Essigsäure	0,12	0,25	0,5	1	2	4
Aq. dest. ad 10,0	8,88	8,75	8,5	8	7	5

Wir fanden genau dasselbe Resultat wie bei unseren ersten Versuchen: in Lösung a^5—c^5 waren üppig wachsende Bakterien nachweisbar, mit Lösung d^5 geimpfte Agarröhrchen zeigten nur spärlicheres Wachstum, in mit Lösung e^5 geimpften war fast nichts gewachsen (4 kleine Kolonien am Boden), mit Lösung f^5 geimpftes Agarröhrchen blieb steril. Nach 2×24 Stunden und nach 3×24 Stunden fanden wir ein ganz unerheblich größeres Wachstumshindernis als bei unseren Ursprungslösungen, nämlich nach 2×24 Stunden: Lösung a^5 reichliches Wachstum, Lösung b^5 spärliches Wachstum (8 Kolonien), c^5 eine einzige Kolonie, d—f kein Wachstum. Nach 3×24 Stunden waren wachstumfähige Bak-

---

mit a^5—f^5, 5 mal so schwache mit $a^{1/5}$—$f^{1/5}$. Milchsäure-Lösungen bezeichnete ich mit a^m—f^m, resp. $a^{m1/5}$—$f^{m1/5}$.

terien nur nachweisbar in Lösung a^5. Wir fanden also in diesen 5fach saureren Lösungen dasselbe Resultat wie in unseren Ursprungslösungen.

Nun stellten wir Lösungen her, die die 5fach geringere Menge an Natriumacetat und Essigsäure enthielten, als die Ursprungslösungen, nämlich:

Lösung	$a^{1/5}$	$b^{1/5}$	$c^{1/5}$	$d^{1/5}$	$e^{1/5}$	$f^{1/5}$
n/50 Natriumacetat	1	1	1	1	1	1
n/50 Essigsäure	0,12	0,25	0,5	1	2	4
Aq. dest. ad 10,0	8,88	8,75	8,5	8	7	5

Wir erhielten prompt dasselbe Resultat. In Lösung $a^{1/5}$—$d^{1/5}$ waren entwicklungsfähige Bakterien nachweisbar, in Lösung $e^{1/5}$ und $f^{1/5}$ nicht mehr. Man hätte annehmen können, daß das Wachstum in diesen dünneren Lösungen dichter wäre, aber das Gegenteil war der Fall: die Kolonien waren kleiner, dünner und zerstreuter als sonst. Nach 2×24 Stunden finden wir ein von den Ursprungslösungen unerheblich verändertes Resultat: in Lösung $a^{1/5}$ lebende Bakterien, in den anderen Lösungen nicht mehr. Nach 3×24 Stunden ergab sich das gleiche Resultat.

Wir haben also in diesen 5fach schwächeren Säurelösungen dasselbe Resultat erhalten wie mit den Ursprungslösungen bis auf eine unerhebliche Verschiebung nach 2×24 und nach 3×24 Stunden.

Wir gingen nun zu Versuchen mit Milchsäure und milchsaurem Natron über. Wir verwandten von vornherein eine Konzentration, die der $[H^{\cdot}]$ unserer Ursprungslösungen entsprach, nämlich:

Lösung	a^m	b^m	c^m	d^m	e^m	f^m
n/2 Natriumlactat	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
n/10 Milchsäure	0,12	0,25	0,5	1,0	2,0	4,0
Aq. dest.	7,88	7,75	7,5	7	6	4

Wir fanden die Grenze bei d^m, eine Lösung, deren [H·] sich von dem [H·] der Ursprungslösung nur um geringe Werte unterscheidet. Lösung a^m und b^m zeigten üppig wachsende Bakterien, c^m und d^m zeigten recht spärlich wachsende Bakterien, ganz minimal war das Wachstum in e^m. Mit Lösung f^m geimpfte Agarröhrchen blieben steril. Nach 2×24 Stunden zeigte nur noch a^m Wachstum. Der Versuch wurde mit denselben Lösungen wiederholt und dem gleichen Resultat: in mit a^m und b^m geimpften Agarröhrchen war dichter Rasen von Kolonien gewachsen, in mit c^m geimpften Röhrchen war das Wachstum schon dünn, in mit d^m geimpften sehr spärlich, in mit e^m geimpften waren nur ganz wenig und dünne Kolonien gewachsen, in f^m waren keine lebenden Bakterien nachweisbar. Nach 2×24 Stunden zeigten Lösung a^m und b^m noch Wachstum, nach 3×24 Stunden nur Lösung a^m.

Auch hier nahmen wir nunmehr Lösungen, die $5 \times$ so geringe Mengen an Milchsäure und milchsaurem Natron enthielten als die Lösung a^m—f^m, wo aber die [H·] dieselbe geblieben ist, nämlich:

Lösung	$a^{m1/5}$	$b^{m1/5}$	$c^{m1/5}$	$d^{m1/5}$	$e^{m1/5}$	$f^{m1/5}$
n/2 Natriumlactat	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
n/50 Milchsäure	0,12	0,25	0,5	1,0	2,0	4,0
Aq. dest. ad 10,0	9,48	9,35	9,1	8,6	7,6	5,6

Wiederum dasselbe Resultat. In Lösung $a^{ml/5}$—$d^{ml/5}$ waren wachstumsfähige Bakterien nachweisbar, in $e^{ml/5}$ und $f^{ml/5}$ nicht mehr. Nach 2×24 Stunden war das Wachstum um ein Röhrchen zurückgegangen (bis $c^{ml/5}$), nach 3×24 Stunden wiederum (bis $b^{ml/5}$).

Tabelle I.

Wachstum von Coli-Bakterien in Lösungen, die im Brutschrank gestanden.

Prüfung nach	1×24	2×24	3×24 Std.
Natriumacetat und Essigsäure in Ursprunglösung	d—e	c—d	b—c
dto.	d—e	—	—
Natriumacetat und Essigsäure in 5 mal so starken Lösungen	d^5—f^5	b^5—d^5	a^5—b^5
Natriumacetat und Essigsäure in 5 mal so schwachen Lösungen	$d^{1/5}$—$e^{1/5}$	$a^{1/5}$—$b^{1/5}$	$a^{1/5}$—$b^{1/5}$
Natriumlactat und Milchsäure in Ursprunglösung	d^m—f^m	a^m—b^m	—
dto.	d^m—f^m	b^m—c^m	a^m—b^m
Natriumlactat u. Milchsäure in 5 mal schwächeren Lös.	$d^{m1/5}$-$f^{m1/5}$	$c^{m1/5}$-$b^{m1/5}$	$b^{m1/5}$-$c^{m1/5}$

Zur Erklärung: Die Lösungen geben den „Desinfektionsschwellenbereich“ nach obiger Definition an; das zuerst genannte Röhrchen bezeichnet die untere Grenze, bei der eine zwar enorme Wirkung auf die Bakterien schon vorhanden ist, aber einzelne Bakterien noch wachsen; das zu zweit stehende Röhrchen bezeichnet die obere Grenze, bei der überhaupt kein lebendes Bakterium mehr vorhanden ist.

Versuche mit Colibakterien in Lösungen, die in Zimmertemperatur gestanden haben.

Nicht so einheitlich war das Ergebnis unserer Versuche, wenn wir die sauren Lösungen in Zimmertemperatur stehen ließen. Wir begannen mit denselben Lösungen, mit denen wir bei der Prüfung des Wachstums von Coli im Brutschrank begonnen hatten:

n/10 Natriumacetat	1	1	1	1
n/100 Essigsäure	0,15	0,3	0,6	1,2
Aq. dest. ad 10,0	8,85	8,7	8,4	7,8

Wir fanden Wachstum in allen Röhrchen. Dann gingen wir zu stärkeren Lösungen über, die ich oben mit a—f bezeichnet habe, nämlich:

Lösung	a	b	c	d	e	f
n/10 Natriumacetat	1	1	1	1	1	1
n/10 Essigsäure	0,12	0,25	0,5	1,0	2,0	4,0
Aq. dest. ad 10,0	8,88	8,75	8,5	8	7	5

Wir fanden bei zweimaligem Versuch in allen Lösungen wachstumsfähige Bakterien. Auch nach 2×24 und nach 3×24 Stunden waren in allen Lösungen gut wachsende Bakterien nachweisbar. Nun gingen wir zu stärkeren Lösungen über, von denen die ersten drei den letzten drei der eben gebrauchten Lösungen entsprachen, nämlich:

Lösung	d	e	f	g	h
n/10 Natriumacetat	1	1	1	1	1
n/2 Essigsäure	0,2	0,4	0,8	1,6	3,2
Aq. dest. ad 10,0	8,8	8,6	8,2	7,4	5,8

Wir fanden nach 24 Stunden in Lösung d—g gut wachsende, in Lösung h sehr spärlich wachsende Bakterien; nach 2×24 Stunden zeigten auch mit der Lösung g geimpfte Agarröhrchen spärliches Wachstum, in Lösung h waren keine lebenden Bakterien mehr nachweisbar. Nach 3×24 Stunden zeigten nur noch d und e genügendes, f nur sehr spärliches, g und h kein Wachstum mehr. Wir wiederholten den Versuch mit denselben Lösungen e—h und nahmen die nächst stärkere Lösung noch hinzu:

Lösung i:

$n/_{10}$ Natriumacetat	1	
$n/_{1}$ Essigsäure	3,2	und fanden:
Aq. dest. ad 10,0	5,8	

Nach 24 Stunden gut wachsende Coli in e—h; in i nur sehr mangelhaftes Wachstum; nach 2×24 Stunden Wachstum nur noch bei e—g, nach 3×24 Stunden nur noch bei Lösung e. Wenn wir unsere Versuche zusammenfassen, können wir sagen, daß die Grenzlösung, in der Colibakterien kaum noch wachsen, sich bei Lösung g—h befindet.

Daß unser Resultat hier nicht ganz präzise ist, mag auf der verschiedenen Außentemperatur beruhen. Wir hatten die Röhrchen am Fenster stehen lassen, die Versuchszeit war Januar. Man sieht übrigens, daß die Resistenz der Colibakterien gegen saure Lösungen, die in Zimmertemperatur stehen, größer ist als gegen die im Brutschrank stehenden Lösungen.

Versuche mit Typhusbazillen.

In einer Reihe weiterer Versuche prüften wir die Resistenz der Typhusbazillen. Wir begannen mit in Brutschrank stehenden Lösungen. Bei den Lösungen a—f fanden wir die Grenze nach 24 Stunden bei Röhrchen b—c; es zeigt sich also, daß der Typhusbazillus eine um etwas größere Empfindlichkeit gegen Säure hat als das Bacterium coli. Im einzelnen zeigten a und b reichliches, c dünnes, d ganz spärliches, kaum nennenswertes Wachstum (8 kleine Kolonien), e und f zeigten Sterilität. Nach 2×24 Stunden zeigte Röhrchen a gutes, b nur spärliches Wachstum, c—f Sterilität. Nach 3×24 Stunden zeigte nur noch a Wachstum. Bei Wiederholung des Versuchs ergab sich ungefähr das gleiche Resultat: nach 24 Stunden spärliches Wachstum bis b und c, nach 2×24 Stunden nur noch bei a und b, nach 3×24 Stunden nirgends mehr Wachstum.

Bei 5fach schwächeren Lösungen $a^{1/5}$—$f^{1/5}$ fanden wir: nach 24 Stunden waren in Röhrchen $a^{1/5}$—$c^{1/5}$ gut wachsende Bakterien nachweisbar, in den anderen nicht mehr. Nach 2×24 Stunden fanden wir nur in den mit Lösung $a^{1/5}$ und $b^{1/5}$ geimpften Agarröhrchen Wachstum, nach 3×24 Stunden nur noch in dem mit Röhrchen $a^{1/5}$. Bei diesen starken Verdünnungen sind Verschiebungen um ein Röhrchen gegenüber den Resultaten der Ursprungslösungen durch die Wasserverunreinigung genügend geklärt. Bei 5 mal so starken Lösungen a^5—f^5 fanden wir nach 24 Stunden wachstumsfähige Bazillen in Lösung a^5. Nach 2×24 Stunden auch hier nicht mehr. Bei Wiederholung des Versuchs fügten wir die nächst schwächeren Lösungen hinzu α^5, β^5, nämlich:

Lösung	β^5	α^5	a^5	b^5
n/2 Natriumacetat	1	1	1	1
n/2 Essigsäure	0,03	0,06	0,12	0,25
Aq. dest. ad 10,0	8,97	8,94	8,88	8,75

Grenze wie vorher bei a^5, nach 2×24 Stunden ebenfalls noch, nach 3×24 Stunden bei α^5.

Tabelle II.

Wachstum von Typhus in im Brutschrank stehenden sauren Lösungen.

Prüfung nach	1×24	2×24	3×24 Std.
Ursprunglösung a—f	c—e	b—c	a—e
dto.	b—d	b—c	nirgends Wachs-
5 mal so starke Lösungen a^5—f^5	a^5—b^5	nirgends Wachst.	tum
dto. β^5—e^5	a^5—b^5	a^5—b^5	α^5—a^5
$5\times$ so schwache Lös. $a^{1/5}$—$f^{1/5}$	$c^{1/5}$—$d^{1/5}$	$b^{1/5}$—$c^{1/5}$	$a^{1/5}$—$b^{1/5}$

Wir machten nur einen Versuch mit in Zimmertemperatur stehenden Lösungen, und zwar mit den Ursprungslösungen a—f. Wir fanden wie beim Bacterium coli eine geringere Empfindlichkeit gegen diese kalt stehenden sauren Lösungen. Nach 24 Stunden war Wachstum noch in allen Lösungen nachweisbar, allerdings in f nur sehr spärlich; nach 2×24 Stunden war schon in Lösung d das Wachstum sehr spärlich, e und f blieben steril; nach 3×24 Stunden war die Wachstumfähigkeit um eine Länge zurückgegangen.

Eigenschaften des „Säure-Typhusbazillus“ und des ”Säure-Coli“.

Wir prüften die Eigenschaften des Typusbazillus, der in sauren Lösungen gestanden hat, und fanden sie im ganzen

unverändert: Lackmus-Nutrose und Neutralrot-Bouillon wurden nach 24 Stunden dicht getrübt, ohne daß (sc) Entfärbung eintrat; im Gärungskolben bildete sich kein Gas; spezifische Agglutination trat sofort ein und war stark positiv. Dagegen verlief die Säureagglutination, wie sie L. Michaelis angegeben hat, anormal; bei einem Stamm trat sie bei Röhrchen 4—6 stärker auf als bei 1—3, während normalerweise das Optimum der Agglutination sich in Röhrchen 3 darstellt ($[H^{\cdot}] = 4.10^{-5}$); bei einem anderen Stamm trat die Säureagglutination überhaupt nicht ein.

Die Eigenschaften des in sauren Lösungen gestandenen Coli waren gänzlich unverändert (Gasentwicklung, Koagulation von Lackmus, Molke usw.); quantitativ wurde die Säureproduktivität dieses „Säure-Coli“ nicht geprüft.

Ergebnisse unserer Untersuchungen.

Aus diesen Untersuchungen ergibt sich nun als gemeinschaftliches Resultat:

1 Die Säureresistenz der Colibakterien hängt nicht ab von der absoluten Säuremenge, nicht von der Art der Säure. Sie hängt nur ab von dem Verhältnis von Essigsäure zum essigsauren Natron. Wir fanden bei 5fach stärkeren und 5fach schwächeren Essigsäurelösungen die Säureresistenz nur abhängig von dem Verhältnis der Säure zum Salz. Wir fanden in Milchsäurelösungen, in einfachen und 5fach schwächeren Lösungen, ebenfalls die Säureresistenz nur abhängig von dem Verhältnis der Milchsäure zum milchsauren Natron (das allerdings ein anderes ist als das der Essigsäure).

In essigsauren Lösungen war in den allermeisten Fällen

im Röhrchen d nur noch minimales Wachstum, in Röhrchen e kein Wachstum mehr: d. h. die Desinfektionsschwelle von Lösungen aus Essigsäure und essigsaurem Natron liegt für Colibakterien in einem Verhältnis der Säure zum Salz von 1 : 1 bis 2 : 1. In milchsauren Lösungen war in allen Fällen in Röhrchen d ganz spärliches, in Röhrchen e kaum noch, in Röhrchen f gar kein Wachstum mehr: d. h. die Desinfektionsschwelle von Milchsäure — milchsauren Natrongemischen liegt für Colibakterien in einem Verhältnis der Säure zum Salz wie 1 : 10 bis 4 : 10.

Nun haben wir aber oben gesehen, daß von dem Verhältnis der Säure zum Salz die Wasserstoffionenkonzentration abhängt. Die Wasserstoffionenkonzentration ist

$$[H^{\cdot}] = k \,.\, \text{Säure/Salz},$$

wobei k die Dissoziationskonstante der Säure darstellt. k ist für Essigsäure (wir geben runde Zahlen, da unsere Schwelle nicht scharf ist) 2.10^{-5} (genau $1{,}8.10^{-5}$). k für Milchsäure ist $1{,}5.10^{-4}$ (genau $1{,}38.10^{-4}$)*.

Dann erhalten wir also für Essigsäure

$$[H^{\cdot}] = 2.10^{-5} \cdot {}^{1}/_{1} \text{ bis } 2.10^{-5} \cdot {}^{2}/_{1},$$

$$\text{d. i. } 2.10^{-5} \text{ bis } 4.10^{-5},$$

für Milchsäure

---

* Wir können diese Korrektur mit einer für unsere Zwecke ausreichenden Genauigkeit vornehmen, da die Formel

$$[H^{\cdot}] = k \,.\, \text{Säure/Salz}$$

der Wirklichkeit nur dann entspricht, wenn alles Salz dissoziiert ist. Dies ist in konzentrierten Lösungen, z. B. in unseren ${}^{1}/_{10}$ bis ${}^{1}/_{100}$ n-Lösungen nicht der Fall, so daß die Konzentration der $H^{\cdot}$-Jonen entsprechend höher ist, und wir die Dissoziationskonstante um rund 10 % erhöhen können.

$$[H^{\cdot}] = 1{,}5.10^{-4 \cdot 1/10} \text{ bis } 1{,}5.10^{-4 \cdot 4/10},$$
$$\text{d. i. } 1{,}5.10^{-5} \text{ bis } 6.10^{-5}.$$

Das sind die beiden Werte für [H·], die praktisch, in Anbetracht der Unschärfe des Schwellenwertes, zu fast übereinstimmender Wasserstoffionenkonzentration führen. Somit ist erwiesen, daß der Schwellenbereich einer Säure für Colibakterien nur von der [H·] abhängt.

Diese Zahl beträgt in runden Zahlen 2.10^{-5}.

2. Genau dasselbe Resultat haben wir für Typhusbazillen erbracht. Der Schwellenbereich ist hier etwas größer. Bei Versuchen mit ursprünglichen, 5 mal so starken, 5 mal schwächeren Essigsäurelösungen fanden wir die Säureresistenz nur abhängig von dem Verhältnis der Säure zum Salz, d. h. wie wir gesehen haben, von der [H·]. Wir fanden bei einigen Versuchen schon bei Röhrchen a eine starke Wachstumshemmung, bei Röhrchen b schon Sterilität, in anderen Versuchen verschob sich das Resultat um einige Röhrchen, so daß erhebliche Wachstumshemmung erst in Röhrchen c eintritt, Sterilität in Röhrchen d. Das entspricht einem Verhältnis der Säure zum Salz wie 1 : 8 bis 1 : 2 bis 1 : 1. Die Wasserstoffionenkonzentration, die für Typhusbazillen schädlich ist, sie in ihrem Wachstum stark hemmt oder gar alle abtötet, ist

$$[H^{\cdot}] = k \,.\, \text{Säure/Salz}$$
$$= 2.10^{-5}.1/8 \text{ bis } 1/2 \text{ bis } 1/1$$
$$= 0{,}25.10^{-5} \text{ bis } 1.10^{-5} \text{ bis } 2.10^{-5}.$$

Im Mittel erhalten wir einen Wert, der etwas tiefer liegt als für Coli.

Wir haben mit unseren Untersuchungen für die Biologie der Coli- und Typhusbakterien charakteristische Eigenschaften festgestellt, die wir zu anderen Eigenschaften dieser Bakterien in Beziehung setzen können.

Es ist bekannt, daß das Bacterium coli die Eigentümlichkeit besitzt, Milchzucker zu spalten und dabei Milchsäure zu produzieren. Andererseits haben wir heute die Schädlichkeit saurer Lösungen auf Colibakterien kennen gelernt. Das Bacterium coli also produziert Stoffe, die ihm selber schädlich sind. Michaelis und Marcora haben dieses Problem näher untersucht und gefunden, daß das Bacterium coli in Nährböden verschiedenster Alkalität verschiedene Säuremengen produziert, bis es einen bestimmten Aziditätsgrad erreicht hat, der einer [H·] von etwa 1.10^{-5} entspricht. Wir haben heute als erheblich schädigend für Bacterium coli eine [H·] von im Mittel 2.10^{-5} gefunden, $1{,}5.10^{-5}$ schadet schon merklich, $1{,}0.10^{-5}$ schadet nicht; d. h. die Wasserstoffionenkonzentration von $1{,}0 . 10^{-5}$ ist der höchste Grad von Azidität, den das Bacterium coli ohne Schädigung ertragen kann; es ist ferner die Azidität, die das Bacterium coli in Milchzuckerlösungen erzeugen kann.

Für Typhusbazillen konnte sich hier natürlich nichts ergeben, da Typhusbazillen nicht säuern. Dagegen können wir etwas anderes anführen: Bordet und Kraus haben als erste nachgewiesen, daß die Agglutination der Bakterien nichts weiter ist als die Präzipitation eines in den Bakterienleibern enthaltenen Eiweißes. Michaelis hat dann Untersuchungen über die Koagulation der Eiweiße und die Agglutination der Bakterien durch Säuren veröffentlicht. Es wurde durch Benjasch wahrscheinlich gemacht, daß die

säureflockbare Substanz der Typhusbazillen mit der spezifisch-agglutinablen identisch ist, dadurch, daß er die Parallelität der Säureagglutination und der spezifischen Agglutination bei Typhusstämmen von verschiedener Agglutinabilität zeigte. Diese Wahrscheinlichkeit wurde zur Gewißheit, als Michaelis nachwies, daß die reine Lösung der säureflockbaren Substanz gegen spezifisches Agglutinin reagiert. Michaelis fand nun das Agglutinationsoptimum der Typhusbazillen bei einer $[H^{\cdot}]$ von 4.10^{-5}. Wir fanden als oberste Grenze unserer Desinfektionsschwelle (jene $[H^{\cdot}]$, in der alle Bakterien abgetötet werden) 2.10^{-5}. Mit anderen Worten: Typhusbazillen vertragen die $[H^{\cdot}]$ nicht mehr, durch die sie agglutiniert werden. Oder: das Absterben der Typhusbazillen geht Hand in Hand mit der Agglutination dieses für Typhusbazillen charakteristischen Stoffes. Im Gegensatz hierzu sei daran erinnert, daß die spezifische Agglutination der Bakterien durch Immunsera nicht mit der Abtötung derselben verknüpft ist.

Literatur.

Paul, Birstein u. Reuß, Beiträge zur Kinetik der Giftwirkung von gelösten Stoffen. Biochemische Zeitschr. 1910, 29. Bd.

Michaelis, Methoden zur Bestimmung der Wasserstoffjonenkonzentration in Abderhaldens Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden, Bd. 3 u. 5.

—, Die Säureagglutination der Bakterien. Dtsch. med. W. 1911 Nr. 21.

Benjasch, Die Säureagglutination der Bakterien. Zeitschr. f. Immunitätsforschung 1912, 12. Bd., 3. Heft.

Michaelis u. Davidsohn, Die Abhängigkeit spezifischer Fällungsreaktionen von der Wasserstoffjonenkonzentration. Biochem. Zeitschrift 1902, 47. Bd.

Michaelis u. Marcorna, Die Säureproduktivität des Bacterium Coli. Biochemische Zeitschr. 1912, Bd. 14, Nr. 2.

Lebenslauf.

Ich, Arthur Bruenn, bin geboren am 8. Mai 1885 zu Berlin, jüdischer Religion, als Sohn des Kaufmanns J. Brünn und seiner Ehefrau geb. Feld.

Ich besuchte das Sophien-Gymnasium in Berlin, wo ich Michaelis 1905 die Reifeprüfung bestand. Ich studierte in Berlin, München und Freiburg i. Br. Ostern 1908 bestand ich in Berlin das tentamen physicum mit „Gut". Im Winter 1910/11 bestand ich in Freiburg das Staatsexamen mit „Gut". Während des praktischen Jahres arbeitete ich 4 Monate in der Augenpoliklinik von Prof. Silex, 3 Monate in der geburtshilflichen Abteilung des städt. Krankenhauses Charlottenburg (Leiter Prof. Keller) und 5 Monate in der inneren Abteilung des städt. Krankenhauses am Urban unter Herrn Geh. Rat Fränkel. Am 1. März 1912 erhielt ich die Approbation als Arzt. Vom 1. April 1912 bis 1. April 1913 arbeitete ich als Assistenzarzt in der Kinderheilanstalt zu Dresden (Leiter Sanitätsrat Dr. Plettner).

Meine Doktordissertation arbeitete ich im bakteriolog. Laboratorium des Berliner städt. Krankenhauses am Urban aus (Leiter Prof. L. Michaelis).

Zum Schluß sei es mir gestattet, Herrn Prof. L. Michaelis für die Anregung zu dieser Arbeit und für die Unterstützung bei derselben meinen herzlichsten Dank auszusprechen.